9206 N.8
1899
Lane Medical Library

Untersuchungen

über die

Wirkung des Desinfectionsmittels

auf die

an verschiedenen Stoffen haftenden Milzbrandsporen.

Inaugural-Dissertation

verfasst und

der hohen medizinischen Fakultät

der

vereinigten Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg

zur

Erlangung der Doctorwürde in der Medizin und Chirurgie,

vorgelegt von

Ukichi Otsuki
aus Japan.

Referent: Herr Prof. Dr. C. Fränkel.

Halle a. S.
Hofbuchdruckerei von C. A. Kaemmerer & Co.
1899.

Imprimatur

Prof. Dr. **J. Bernstein**

h. t. Decanus.

Seinen lieben Kindern

gewidmet

vom Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153703_0241

Kaum ein anderes Gebiet der praktischen Gesundheitspflege hat durch das machtvolle Eingreifen der bakteriologischen Forschung eine so vollkommene Umgestaltung erfahren, wie das der Desinfection. War man bis zur Entdeckung der Krankheitserreger doch darauf angewiesen, die Brauchbarkeit der hier benutzten Mittel nach dem Maasse ihrer Einwirkung auf beliebige höhere Lebewesen, wie Insecten, Amphibien oder selbst Vögel abzuschätzen, und war man auf diesem Wege zur Empfehlung von Methoden gelangt, die, wie die Räucherung mit Chlor oder die Entwickelung von schwefliger Säure oder die Anwendung der trockenen Hitze, in dem Augenblicke versagten, wo man ihren Einfluss an den eigentlichen Infectionserregern aus der Classe der Bakterien zu prüfen begann. Bekanntlich verdanken wir diesen Nachweis und die genauen, weiteren grundlegenden Erhebungen den berühmten Arbeiten von Koch[1]), der auch dasjenige Untersuchungsverfahren einführte, welches lange Zeit hier alleinige Benutzung gefunden hat. Von der Anschauung ausgehend, dass ein Desinfectionsmittel von allgemeiner Brauchbarkeit auch die widerstandsfähigsten Formen der pathogenen Bakterien mit Sicherheit vernichten müsse, verwandte er als „Testobject" die Sporen der Milzbrandbacillen, die an Seidenfäden angetrocknet, dann der Einwirkung des

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. I. 1881. S. 301.

jeweiligen Desinficiens ausgesetzt und endlich auf geeignete Nährböden verpflanzt wurden, um hier entweder noch auszukeimen, oder durch ihre fehlende Entwickelung den Erfolg des betreffenden Eingriffes darzuthun.

An dem damit von Koch aufgestellten Schema hat die weitere Forschung nun eine Reihe von Veränderungen vorgenommen, die sich im wesentlichen auf drei verschiedene Punkte erstreckten. Einmal hat man sich der Überzeugung nicht verschliessen können, dass die von Koch verlangte Abtötung auch der resistentesten Infectionserreger eine Forderung sei, die nicht unter allen Umständen als unerlässlich erscheine, und dass man da, wo es sich um die Zerstörung von Krankheitskeimen mit nachweislich geringerem Dauervermögen handelt, wie z. B. bei der Diphtherie, der Tuberkulose, dem Typhus, der Cholera u. s. f. auch mit schwächeren Mitteln noch zum Ziel kommt. Haben wir hier eine grundsätzliche Abweichung vom Koch'schen Wege vor uns, der die Praxis jetzt aller Orten schon gebührende Rechnung getragen hat, so berühren die beiden anderen Neuerungen nur die Methodik und sind aus der Wahrnehmung entsprungen, dass bei der Benutzung der Milzbrandsporen, die immer noch den unentbehrlichen Prüfstein für die vergleichende Beurtheilung verschiedener Desinficientien darstellen, gewisse, Koch unbekannt gebliebene Vorsichtmaasregeln nöthig sind. So zeigten Esmarch[1]), C. Fränkel[2]) u. A. m., dass die Widerstandskraft der Milzbrandsporen an sich keine feststehende Grösse sei, dass nicht ganz unerhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen vorkommen, und so hat man sich veranlasst gesehen, stets für die gerade benutzte Kultur zunächst die Höhe der Resistenz zu ermitteln und dann erst die eigentliche Prüfung des Desinficiens vorzunehmen, dessen Wirksamkeit bestimmt werden soll. Endlich haben

[1]) Zeitschrift f. Hygiene. Bd. V. S. 67.
[2]) Ebenda. Bd. VI. S. 524.

uns die Forschungen von Geppert[1]) und seiner Nachfolger gelehrt, dass bei der Verwendung von desinficirenden Flüssigkeiten, in die man die Seidenfäden eintaucht, um sie nach Ablauf wechselnder Zeiten in Nährbrühe, bezüglich Agar mit zu übertragen, in der Regel kleine Mengen des gelösten Stoffes haften bleiben, die dann die Entwickelung der Keime verhindern und also eine Abtötung vortäuschen, die in Wahrheit nicht erreicht ist. Geppert[2]) hat deshalb eine sorgfältige Beseitigung dieser Spuren, am besten durch Ausfällung auf chemischem Wege, als unerlässliche Vorbedingung für ein fehlerfreies Ergebniss bezeichnet und eben deshalb empfohlen, auch von dem Gebrauch der Seidenfäden Abstand zu nehmen, da dieselben gewisse Reste des Desinfectionsmittels mit besonderer Zähigkeit binden und zurückhalten. Mit diesem Hinweis auf die Bedeutung des Substrats, der Unterlage, auf der die Sporen befestigt und dann dem desinficirenden Eingriff unterworfen werden, für den Ausfall der Versuche hat er ohne Zweifel eine Frage berührt, die in wissenschaftlicher, d. h. theoretischer und auch in praktischer Hinsicht eine nicht zu unterschätzende Wichtigkeit besitzt. In ersterer, weil begreiflicherweise die von den einzelnen Forschern berichteten Ergebnisse über den Werth des nämlichen oder verschiedener Desinficientien schlechterdings nicht mehr mit einander vergleichbar erscheinen, wenn die geprüften Sporen bald an diesen, bald an jenen Stoffen, wie an Seidenfäden, Glasperlen, Granaten, um nur die üblichsten anzuführen, angetrocknet gewesen sind, der erwähnte Factor aber in der That eine erhebliche Rolle für den schliesslichen Erfolg zu spielen vermag. Die Praxis aber dürfte hier insofern ebenfalls betheiligt sein, als unter natürlichen Verhältnissen die zu vernichtenden Keime ja gerade an den verschiedensten Substanzen, Kleidungsstücken,

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1889. Nr. 36; 1890. Nr. 11; Deutsch. med. Wochenschr. 1891. Nr. 37.

[2]) A. a. O.

technischen Rohstoffen u. s. f. haften, es also schon deshalb von Interesse sein muss, genaues über den Einfluss dieser letzteren auf die Höhe der desinficirenden Wirkung zu erfahren.

Es muss daher einigermassen überraschen, dass in der ungeheueren und fast erdrückenden Fülle von Arbeiten, die das einschlägige Gebiet behandeln, dieser Gegenstand zwar öfters kurz gestreift und gelegentlich gewürdigt wird, dass es aber an systematischen, unter völlig gleichen Bedingungen bewerkstelligten Untersuchungen über die ganze Frage fast völlig mangelt. Eine Ausnahme macht nnr eine von Esmarch[1]) veröffentlichte Mittheilung, der die Sporen an kleinen Stücken von Plüsch, Seidenzeug, Glas u. s. f. antrocknete und dann dem strömenden Dampfe aussetzte, hierbei aber irgendwelche Abweichung nicht gefunden haben will.

Unter diesen Umständen bin ich gerne einer Aufforderung des Herrn Prof. Dr. C. Fränkel gefolgt, den Einfluss des Substrats auf die Widerstandsfähigkeit der an demselben haftenden Milzbrandsporen einer erneuerten, eingehenden Prüfung zu unterziehen. Ich benutze die Gelegenheit, um Herrn Prof. Dr. C. Fränkel für die liebenswürdige Anleitung und Unterstützung bei dieser Arbeit meinen herzlichsten und ergebensten Dank auszusprechen.

---

[1]) A. a. O.

I.

Einfluss verschiedener allgemeiner Bedingungen auf die Widerstandsfähigkeit der Milzbrandsporen.

Für die Ausführung vergleichender Versuche ist es durchaus nothwendig, über einen grossen Vorrath von Milzbrandsporen zu verfügen, die an sich ganz die nämliche Widerstandsfähigkeit besitzen. Wie schon erwähnt, machen sich hier einmal gewisse Abweichungen nach der Herkunft, der Rasse d. h. der Art der benutzten Stämme bemerkbar. Diese Thatsache zu bestätigen, habe ich im Laufe meiner Experimente vielfache Gelegenheit gehabt. Zum Beweise mögen einige Ergebnisse dienen, die ich mit Milzbrandsporen von verschiedener Provenienz erhalten habe, und die nicht unerhebliche Differenzen zeigten, obwohl die Sporen auf dem nämlichen Nährboden unter sonst völlig übereinstimmenden Bedingungen gezüchtet und dann in der später noch genauer zu schildernden Weise an Seidenfäden angetrocknet worden waren. Die Resistenz betrug gegenüber der Einwirkung des strömenden Dampfes bei:

Tabelle I[1]).

Stamm	Einwirkung des strömenden Dampfes in Minuten						
	1	1½	2	2½	3	3½	4
1	+	+	+	+	+	—	—
2	+	+	+	+	—	—	—
3	+	+	±	—	—	—	—

[1]) In dieser und den folgenden Tabellen
bedeutet + = üppiges Wachsthum.
± = spärliches „
— = kein „

Die Widerstandskraft erreichte also selbst bei der dauerhaftesten Art noch längst nicht die von Esmarch[1]) in seinem Falle beobachtete grösste Höhe von 12 Minuten unter dem Einfluss des strömenden Dampfes.

Ausser dieser gewissermassen angeborenen Eigenschaft der Sporen kommt dann aber ferner noch in wesentlichen Betracht das Alter derselben, und man wird es vielleicht aus einer nicht ganz genügenden Berücksichtigung dieses Punktes erklären dürfen, wenn so sorgfältige Forscher, wie Krönig und Paul, die Vererbung einer gleichmässigen Resistenz innerhalb des nämlichen Stammes nicht bestätigen konnten, vielmehr auch hier wieder von Fall zu Fall vorkommende Schwankungen wahrnahmen. Die von einer und derselben Kultur herrührenden und auf einem und demselben Nährboden erzeugten Sporen besitzen thatsächlich je nach ihrem Alter eine ganz verschiedene Widerstandskraft. Wenn man die Sporen einmal kurz nach ihrer Entstehung und dann wieder am nächsten und am übernächsten Tage u. s. f. untersucht, so bemerkt man beträchtliche Abweichungen, die sich in der Richtung zu erkennen geben, dass das Dauervermögen mit der zunehmenden Austrocknung eine Steigerung erfährt und nach einer gewissen Zeit seinen Gipfel erreicht. Ich habe dies bei meinen Versuchen in vollem Umfange bewahrheitet gefunden, wie z. B. die nebenstehende Tabelle lehrt.

---

[1]) A. a. O.

Tabelle II.

Alter der Sporen an Tagen	Einwirkung des strömenden Dampfes in Minuten							
	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	3	3 1/2	4
1[1]	+	+	+	−	−	−	−	−
2	+	+	+	+	+	±	−	−
3	+	+	+	+	+	+	−	−
4	+	+	+	+	+	+	−	−
5	+	+	+	+	+	+	−	
6	+	+	+	+	+	+	−	
11	+	+	+	+	+	+	−	
15	+	+	+	+	+	+	−	
20	+	+	+	+	+	+	−	
30	+	+	+	+	+	+	−	
40				+	+	+	−	
50				+	+	+	−	
60				+	+	+	−	
80				+	+	+	−	
100				+	+	+	−	
120				+	+	±	−	

Es erhellt aus den mitgetheilten Zahlen also, dass die Widerstandsfähigkeit der Milzbrandsporen in verhältnissmässig kurzer Zeit, nämlich schon nach etwa 2 Tagen vom Augenblick ihrer Entstehung angerechnet, auf ihrer grössten Höhe angelangt ist und dann weiterhin lange unverändert bleibt. Selbst nach 120 Tagen liess sich noch keine irgendwie bemerkenswerthe Verringerung der Resistenz feststellen, im Gegensatze zu Beobachtungen von Krönig und Paul[2]), die eine langsame aber beständige Abnahme nach der anfänglichen Steigung bemerkt haben wollen. Damit soll natürlich die Möglichkeit nicht bestritten werden, dass der eine Stamm seine Resistenz länger bewahrt als der andere.

[1]) 24 Stunden nach Anlegung der Kulturen wurden die Sporen auf ihre Resistenz geprüft.

[2]) Zeitschrift f. physical. Chemie. Bd. XXI. Heft 3; Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XXV. S. I.

Das Maass der Widerstandskraft hängt aber auch von anderen Bedingungen ab.

So soll nach Frankland[1]) die Temperatur, bei welcher die Sporenbildung vor sich geht, einen Einfluss ausüben, Milzbrandsporen, die bei 18^0—20^0 erzeugt waren, widerstandsfähiger seien, als die bei 35^0—38^0 entwickelten. Bei einer Nachprüfung[2]) dieser Angabe vermochte ich dieselbe nicht zu bestätigen (Tabelle III).

Tabelle III.

Temperatur, bei der die Sporulation stattgefunden hatte	Einwirkung des strömenden Dampfes in Minuten								
	1/4	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	3	3 1/4	3 1/2
Zimmerwärme (20^0)	+	+	+	+	+	+	+	±	—
Brutwärme (37^0)	+	+	+	+	+	+	+	±	—

Von einer Einwirkung der Temperatur, bei der die Sporen entstanden, auf ihre Resistenz war hier keine Rede.

Schon v. Esmarch[3]) hat ferner auf die Bedeutung hingewiesen, die der chemischen Zusammensetzung und sonstigen Beschaffenheit des Nährbodens für die Empfindlichkeit nicht nur der vegetativen, sondern ebenso der auf demselben gebildeten Dauerformen zukommt und endlich hat Geppert[4]) sogar unter Sporen von völlig gleicher Bereitungsart und Entstehungsweise Differenzen der Empfindlichkeit beobachtet, wie wir sie auch bei den vegetativen Bakterien wahrnehmen und für die wir gewissermaassen individuelle Eigenthümlichkeiten der einzelnen verantwortlich machen.

---

[1]) Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XV. S. 101.

[2]) Bei diesem Versuche habe ich die Sporen in eine Anzahl von Agarröhrchen geimpft, von denen die Hälfte bei Brut- und die andere Hälfte bei Zimmerwärme aufbewahrt wurden. Nach 4 Tagen wurden die erzeugten Sporen an Seidenfäden angetrocknet und auf ihre Resistenz geprüft.

[3]) A. a. O.

[4]) A. a. O.

Aus allen diesen Thatsachen ergiebt sich, dass die Resistenz der Sporen von zahlreichen äusseren Einflüssen abhängig ist, die bei vergleichenden Untersuchungen in vollem Umfange berücksichtigt werden müssen, wenn die erhaltenen Befunde nicht zu Trugschlüssen führen sollen.

Ich habe deshalb für meine Experimente zunächst eine möglichst widerstandsfähige Rasse, d. h. einen Stamm ausgewählt, der sich bei einigen vorläufigen Prüfungen als besonders dauerhaft erwiesen hatte und der Einwirkung des strömenden Dampfes während $3^1/_2$ Minuten nicht erlegen war. Um diese Grundresistenz noch weiter zu erhöhen, bin ich dann nach dem Vorgang von Krönig und Paul[1]) bemüht gewesen, auf dem von diesen Forschern betretenen Wege der Auslese, der Selection d. h. unter Ausnützung der vorhin erwähnten individuellen Resistenz zum Ziel zu kommen. Diejenigen Sporen, die einem bis dicht an die Abtötungsgrenze reichenden und für die meisten Zellen wohl verhängnissvollen Eingriff entronnen waren, z. B. eine Behandlung im strömenden Dampf von etwas mehr als 3 Minuten vertragen hatten und danach auf dem künstlichen Nährboden noch zur Entwickelung gelangt waren, dienten für die Gewinnung unseres Materials. Von einer kräftigen Colonie wurden frische Sporen gewonnen, abermals in der oben angedeuteten Weise erhitzt und die gleiche Operation noch mehrfach wiederholt. Eine irgendwie wesentliche Steigerung der anfänglichen Resistenz habe ich auf diese Weise aber nicht zu erzielen vermocht, sondern im grossen und ganzen nur die von C. Fränkel[2]) verfochtene Anschauung bestätigen können, dass die einmal vorhandene Stammresistenz im weiteren Verlaufe der Dinge und unter gleichen Verhältnissen Veränderung nicht mehr erfährt.

Die benutzten Sporen wurden auf demselben, für diesen Zweck in grosser Menge auf einmal bereiteten und

---

[1]) A. a. O.
[2]) A. a. O.

dann vor Licht und Luftzutritt geschützt aufbewahrten Nähragar gezüchtet. Zum Zwecke der Kultur verwandte ich Flachkolben, die den Inhalt von je 5 Reagenzröhrchen aufnahmen. Vor der Impfung habe ich die Oberfläche des erstarrten Substrats dann immer noch mit 1 ccm Peptonbouillon überschüttet und angefeuchtet, da mich die Erfahrung gelehrt hatte, dass auf einem so behandelten Agar die Entwickelung sowohl der Stäbchen selbst wie namentlich die Bildung der Sporen sehr viel rascher und üppiger erfolgt, als wenn man auf diesen Kunstgriff verzichtet. Dagegen hat der von Buchner empfohlene Gebrauch peptonfreien Agars irgend welche Vortheile nach dieser Richtung in unseren Versuchen nicht erkennen lassen.

Im Allgemeinen war auf den so hergestellten Platten schon nach 24 Stunden reichliche Sporulation in den Fäden eingetreten, die Zahl der freien Sporen jedoch noch eine geringe. Die Kulturen wurden daher stets weitere 48 Stunden im Brütschrank belassen und dann erst der Rasen mit einer Platinschlinge abgekratzt, um sofort mit steriler Fleischbrühe zu einer feinen Aufschwemmung verrieben zu werden. Letztere wurde weiter noch durch sterile Glaswolle filtrirt und endlich auf die folgenden Stoffe gebracht, an denen die Sporen angetrocknet und so der Einwirkung des Desinfectionsmittels zugänglich gemacht werden sollten:

1. Seidenfäden
2. Wollfäden
3. Federn (von Tauben)
4. Haare (von Kaninchen)
5. Seidenzeug
6. Leder
7. Holz (Tannen)
8. Filtrirpapier
9. Baumwolle
10. Glasperlen
11. Deckgläschen
12. Granaten.

Vor dem Gebrauche wurden diese Materialien zunächst in entsprechender Weise zugerichtet und gereinigt. Seiden- und Wollenfäden kamen in Stückchen von 1 cm Länge, die übrigen Stoffe von 1 cm Länge und etwa 2 mm Breite zur Verwendung. Die Säuberung von Fett und Staub, die die gleichmässige Vertheilung der Sporen erschwert oder unmöglich gemacht haben würden, geschah in der Weise, dass nach kräftiger Behandlung mit heissem Wasser eine Abspülung mit absolutem Alkohol, dann mit Äther vorgenommen und endlich eine sorgfältige Trocknung angeschlossen wurde.

Jede Sorte brachte ich nach diesen Vorbereitungen in einen besonderen, mit Watteppropfen versehenen Glaskolben und sterilisirte sie hier in der üblichen Weise durch Dampf. Eine Ausnahme hiervon machte einmal das Leder, dass sich unter dem Einfluss des Dampfstromes bekanntlich in eine wachsartige Masse verwandelt und deshalb nur durch Kochen in Wasser sterilisirt werden konnte. Um nun endlich an den so präparirten Stoffen eine möglichst gleiche Zahl von Sporen zu fixiren und damit einer Bedingung zu genügen, auf deren Wichtigkeit für den schliesslichen Erfolg von verschiedenen Seiten, so von Geppert[1]) Behring[2]), Pane[3]), Krönig und Paul[4]) u. s. f. hingewiesen worden ist, habe ich stets die nämliche Menge der filtrirten Sporenaufschwemmung verwandt, dieselbe in Petrischalen ausgegossen und dann hier auf die betreffenden Materialen einwirken lassen. Die Flüssigkeit wurde alsbald ausgesogen, ausserdem aber durch häufiges Umwenden der Stückchen während einer Zeit von 15 Minuten für gleichmässige Vertheilung gesorgt, und so in der That fast stets eine vollständige Aufnahme der Suspension bis auf die letzten Spuren herbeigeführt. Die Proben wurden

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1891. Nr. 25.
[2]) Bekämpfung der Infectionskrankheiten. Leipzig 1894. S. 44.
[3]) Atti della R. Academia medica Roma. 1890. Serie II. Vol. V.
[4]) A. a. O.

dann einzeln in eine mit sterilisirtem Fliesspapier ausgekleidete Petrischale gebracht und hier getrocknet. Anfänglich geschah das im Brütschrank und zwar in der Weise, dass die beschickten Petrischalen mit halb gelüftetem Deckel in eine grössere sterile Doppelschale gestellt und mit diesen dem Thermostaten anvertraut wurden. Im Verlauf meiner Beobachtungen wurde ich aber auf Thatsachen aufmerksam, die mir gewisse Zweifel an der Brauchbarkeit dieses Verfahrens zu rechtfertigen schienen. Es zeigte sich nämlich, dass Sporen von bekannter und erheblicher Widerstandsfähigkeit und zwar besonders solche, die an Wollen- und Seidenfäden, sowie Baumwollstückchen hafteten, auffällige und nicht unbeträchtliche Schwankungen in ihrer Resistenz hervortreten liessen, z. B. bei der folgenden Behandlung mit strömendem Dampf schon nach $2^1/_2$ Minuten abgestorben waren, während sie vorher demselben Eingriffe mehr als 3 Minuten widerstanden hatten und auch die an den anderen Proben fixirten, ganz in der gleichen Weise und zur gleichen Zeit bereiteten noch das nämliche Maass von Dauerhaftigkeit besassen. Ich habe hierfür keine andere Erklärung finden können, als dass die Sporen bei der verhältnissmässig langsamen Art der Trocknung und andererseits bei der günstigen Temperatur Gelegenheit genommen hatten, in den geringen Resten von Nährstoffen, die in die betreffenden Materialien bei der Imprägnirung mit der Aufschwemmung gelangt waren, und die wesentlich wohl aus der bei Herstellung der letzteren benutzten Fleichbrühe stammten, auszukeimen oder doch gewissermassen in die ersten Stadien dieses Ereignisses einzutreten und deshalb eine Verringerung ihrer Resistenz erfahren hatten.

Um diesem Übelstande zu begegnen, habe ich die Antrocknung dann mit Hilfe des Exsiccators beschleunigt, letzteren in der Regel noch evacuirt und endlich die Brütwärme ganz vermieden, die Behälter vielmehr bei einer Temperatur von etwa 10^0 aufgestellt. Nach 15 Stunden

war über Chlorcalcium oder concentrirter Schwefelsäure dann die Trocknung in der Regel ganz beendet, und Schwankungen in der Resistenz der Sporen kamen weiter nicht mehr zur Beobachtung. Die getrockneten Proben wurden schliesslich in sterile Reagenzröhren übertragen und hier, gegen Licht geschützt, bei einer gleichmässigen niederen Temperatur aufbewahrt.

II.
Die Einwirkung des strömenden Dampfes.

Um die Einwirkung des strömenden Dampfes auf die an den eben erwähnten Stoffen angetrockneten Milzbrandsporen zu prüfen, habe ich einen kleinen Dampftopf, den sogenannten amerikanischen Sterilisator von Budenberg benutzt. Mit Hilfe eines Maximal-Thermometers wurde zunächst festgestellt, ob diejenige Ebene des Dampfraumes, die die Objecte aufzunehmen bestimmt war, in der That auch stets die nämliche Temperatur aufwies und durch wiederholte Messungen diese Frage in bejahendem Sinne entschieden. Dem Dampf wurden dann thunlichst jedesmal soviel Probestückchen ausgesetzt, als etwa mit der gleichen Menge der Sporenaufschwemmung beschickt worden waren, z. B. 3 Seidenfäden, 3 Holzsplitter, 6 Granaten u. s. f., um dem oben erwähnten Umstande gerecht zu werden, dass der Erfolg bis zu einem gewissen Grade bedingt sein kann durch die Zahl der exponirten Keime. Die Objecte kamen in kleine Beutel aus sterilisirter Gaze und wurden so an der Kugel des mit dem oberen Theil der Skala aus dem Deckel des Apparates herausragenden Thermometers aufgehängt. Nach Ablauf der Einwirkungszeit entfernte ich die Gazesäckchen, entnahm ihnen die Objecte mit Hilfe einer sterilisirten Pinzette und übertrug sie alsbald in

Peptonbouillon, die dann in den Brütschrank gestellt wurde. Waren die Sporen nicht abgetötet, so keimten sie hier in der Regel rasch aus und hatten schon innerhalb der ersten 24 Stunden ein üppiges Gewirr von Fäden erzeugt, das bereits bei der Betrachtung mit blossem Auge keinen Zweifel an dem Ausfall des Versuches liess. Hatte in der angegebenen Frist eine Entwickelung noch nicht statt gehabt, so blieben die Röhrchen weiter im Brütschrank, und einige wenige Male habe ich dann in der That noch während der weiteren 24 Stunden ein nachträgliches Wachsthum beobachten können. Über diese Zeit hinaus ist dies dagegen niemals der Fall gewesen, und ich kann nach meinen Erfahrungen daher nur die schon von Behring[1]) vertretene Anschauung bestätigen, dass wenn die Bouillon nach 48 Stunden steril bleibt, sicher Abtötung der Milzbrandsporen eingetreten ist.

Das Ergebniss meiner ersten umfassenden Prüfungen führt nun die folgende Tabelle vor.

Tabelle IV.

Material	Control-Röhrchen	Einwirkung des strömenden Dampfes in Minuten								
		1/4	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	3	3 1/2	4
Seidenfäden	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Wollenfäden	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Federn	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Haare	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Seidenzeug	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Filtrirpapier	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Baumwolle	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Holz	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Glasperlen	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Deckgläschen	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Granaten	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leder	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[1]) A. a. O.

Die Resultate sind in der That auffälliger Art und bedürfen nach mehreren Richtungen einer genauen Erörterung. Zunächst springt der erhebliche Unterschied an sich in die Augen, der die Widerständigkeit von Milzbrandsporen gleicher Herkunft und Bereitungsweise je nach den zur Fixirung benutzten Stoffen erkennen lässt. So sehen wir, dass die an Seiden- und Wollenfäden, an Federn, Haaren, Holzstückchen und Papierstreifen sitzenden Sporen nach einer 3 Minuten dauernden Einwirkung des strömenden Dampfes, und die an Baumwollestückchen haftenden sogar noch nach $3^1/_2$ Minuten lebensfähig, die an Glasperlen angetrockneten dagegen nach $2^1/_2$ Minuten, die an den Deckgläschen befindlichen schon nach 1 Minute abgestorben sind. Besonders überraschend aber ist die Thatsache, dass bei den Granaten und den Lederstückchen schon $^1/_4$ Minute genügt hat, um eine vollkommene Zerstörung herbeizuführen und dass bei dem letzteren Material endlich das Wachsthum sogar in den Controlröhrchen ausgeblieben ist.

Auf welchen Gründen mag diese höchst eigenthümliche Erscheinung beruhen? Beim Leder deutet fehlende Entstehung auch in den sonst unbehandelten Röhrchen mit Bestimmtheit darauf hin, dass das Material selbst an die Flüssigkeit Substanzen abgegeben hat, die die Auskeimung der Sporen und die weitere Vermehrung verhindert. Zur Gewissheit wurde diese Vermuthung dadurch, dass es mir wiederholentlich gelang, von solchen Lederstückchen Sporen mit kleinen Mengen von Wasser abzuspülen, und bei der folgenden Übertragung in gewöhnliche Bouillon dann ein ungestörtes Wachsthum zu beobachten. Auch über die Natur der im Leder enthaltenen und durch die Flüssigkeit gelösten bakterienwidrigen Stoffe habe ich genaueren Aufschluss zu gewinnen versucht. Leder ist gegerbte Haut, und zwar wird die von mir hier benutzte Ledersorte, gewöhnliches Stiefelleder, entweder mit Hilfe der Lohgerberei oder mit Mineralgerberei her-

gestellt. In beiden Fällen sind es Säuren, die bei dem ganzen Vorgange die entscheidende Rolle spielen, dort die Gerbsäure, hier meist die Chromsäure oder ihre sauren Salze, und die sich mit den geschwellten Bindegewebefasern theils fest vereinigten, theils nur mechanisch fixirt wurden. Die Annahme lag also von vorneherein nahe, dass diese oder ähnliche Substanzen die entwickelungshemmende Wirkung ausgeübt hatten. In der That zeigte eine einfache Prüfung der mit den Lederstückchen versetzten und einige Stunden so aufbewahrten Fleischbrühe, dass sich die vorher alkalische in eine deutlich saure Reaction verwandelt hatte, und beweisender noch war ein weiteres Experiment, bei dem erstens unbehandelte, zweitens wiederholt mit destillirtem Wasser und drittens mit ganz verdünnter Kalilauge gekochte, dann wieder getrocknete und endlich mit den Milzbrandsporen imprägnirte Lederstückchen nebeneinander dem Dampfstrom ausgesetzt wurden. Es ergab sich, wie die folgende Tabelle lehrt, dass bei dem unbehandelten Material wieder jegliche Entwickelung ausblieb, bei dem wiederholt mit reinem Wasser gekochten noch bis zu 1 Minute Wachsthum Statt hatte, bei den entsäuerten Proben dagegen ganz die gleiche Widerstandsfähigkeit hervortrat, der wir auch beim Gebrauche der meisten anderen Stoffe begegneten.

Tabelle V.

Leder	Control-Röhrchen	Einwirkung des strömenden Dampfes in Minuten							
		$^1/_4$	$^1/_2$	1	$1^1/_2$	2	$2^1/_2$	3	$3^1/_2$
Nicht besonders behandelt	—	—	—	—	--				
Wiederholt gekocht mit reinem Wasser	+	+	+	+	+	—	—		
Gekocht mit alkalischem Wasser .	+	+	+	+	+	+	+	+	—

Ganz in dem nämlichen Sinne sprachen auch noch einige andere Beobachtungen. Wurden z. B. der mit inficirten Lederstückchen beschickten Fleischbrühe, die meist schon nach wenigen Stunden eine starke Bräunung erfuhr und damit die Aufnahme löslicher Substanzen anzeigte, einige Tropfen Natronlauge bis zur alkalischen Reaction zugefügt, so trat nunmehr die vorher vermisste Entwickelung der Milzbrandfäden noch nachträglich ein. Auf Nähragar, das mit einem wässerigen Lederauszug vermischt wurde, blieb das Wachsthum aus, auf solchem, das mit vorher alkalisch gemachtem versetzt worden war, trat es auf u. s. f. Diese Versuche lehren auch, dass es nicht etwa besondere, specifische Eigenschaften der aus dem Leder stammenden Substanzen, sondern nur ihre saure Reaction ist, die hier eine Rolle spielen. In der That wissen wir aus den Mittheilungen von Lingelsheim[1]) u. A., dass die Entwickelung der Milzbrandbacillen gehemmt wird, sobald der Säuregehalt des Nährbodens mehr als 40 ccm Normalsäure pro Liter erreicht, und andererseits zeigen die Arbeiten von Koch[2]), von Walliczek[3]) u. s. f., dass die abtötende Wirkung, der eigentlich desinficirende Einfluss der hier besonders in Betracht kommenden Substanz, der Gerbsäure, für Milzbrandsporen nur ein geringer und jedenfalls erst bei Concentrationen hervortritt, von denen hier gar nicht die Rede sein kann.

Hatte sich für das Ausbleiben des Wachsthums auf den Lederproben so alsbald eine greifbare Ursache ausfindig machen lassen, so stiess die Erklärung der gleichen Erscheinung bei den Granaten auf erhebliche Schwierigkeiten. Nachdem ich mich durch immer wiederholte Versuche zunächst einmal von der Richtigkeit der Beobachtung selbst überzeugt hatte, bemühte ich mich weiterhin, die Grenze zu ermitteln, bis zu der die Widerstandsfähig-

---

[1]) Zeitschrift für Hygiene. Bd. VIII. S. 201.

[2]) A. a. O.

[3]) Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XV. 1894. S. 891.

keit der an den Granaten angetrockneten Sporen sich überhaupt erstreckt. Zu diesem Zwecke habe ich den schon erwähnten Sterilisator in Anwendung gebracht. Dieser wurde zuerst bis auf 100° erhitzt, der Deckel aufgehoben und das inficirte Material hineingelegt. Der Apparat wurde dann verschlossen und wiederum erhitzt. In diesem Moment zeigte das Thermometer in der Regel 65—70°. Nach etwa 1 Minute erreichte die Temperatur 80°. Von diesem Punkte an ging die Temperatursteigerung langsamer vor sich, so dass sie für je 5 Grade etwa 1 Minute in Anspruch nahm. Das Material wurde gleich aus dem Bereich des Dampfes herausgenommen, sobald das Thermometer einen gewissen Grad zeigte. Es ergab sich bei diesem Versuche folgendes:

Tabelle VI.

No. des Versuches	Controlröhrchen	Temperaturgrad				
		80	85	90	95	100
1	+	+	+	+	+	—
2	+	+	+	+	+	—
3	+	+	+	+	+	—
4	+	+	+	+	+	—
5	+	+	+	+	+	—
6	+	+	+	+	+	—
7	+	+	+	+	+	—

Die an den Granaten haftenden Sporen waren also durch eine Erhitzung auf 100° alsbald zerstört worden, und hatten nur die Einwirkung einer Temperatur von 95° überdauert. Auch bei der letzteren aber machte sich bereits ein schädigender Einfluss auf das deutlichste insofern bemerkbar, als das Wachsthum mit der Zunahme der Temperatur ein immer kümmerlicheres und langsameres wurde. Ebenso wie die früheren, habe ich dieses Experiment der grösseren Sicherheit halber des öfteren, und zwar auch

mit anderen, frisch bereiteten Sporen wiederholt, aber stets ganz das gleiche Resultat erhalten, so dass dasselbe also wohl als ein regelmässiges angesehen werden kann.

Auf welche Gründe mag diese seltsame Erscheinung zurückzuführen sein? Die erste Vermuthung, dass die Sporen während der Behandlung mit der feuchten Wärme vielleicht von der glatten Oberfläche der Granaten abgelöst worden seien, erwies sich bei näherer Überlegung von vorneherein als irrig. Denn dieses Ereigniss hätte natürlich bei denjenigen Temperaturgraden, die eine spätere Entwickelung noch zuliessen, ganz in der gleichen Weise Statt haben müssen wie hier. Zudem blieben, wie Tabelle IV belehrt, auf der noch glätteren Fläche der Deckgläschen die Sporen stets haften und wurden nach kurzer Behandlung selbst mit Dampf von 100° nie vermisst. Ich habe ferner im Waschwasser von Granaten, die auf 100° erhitzt worden waren, bei mikroscopischer Untersuchung noch reichliche Sporen wahrnehmen können, während doch eine Entwickelung bei der Übertragung gleicher Proben in Fleischbrühe nicht erfolgte, und endlich sei bemerkt, dass selbst durch kräftiges Schütteln imprägnirter, aber noch nicht erhitzter Granaten mit sterilem Wasser, also einem sehr viel stärkeren mechanischen Eingriff, als die Einwirkung des Dampfstromes darstellt, die Sporen von ihrer Unterlage nicht entfernt werden. Ich konnte bei diesen Versuchen vielmehr nur die Beobachtung von Krönig und Paul[1]) bestätigen, dass zwar schon nach ganz kurzer Zeit ein erheblicher Theil der fixirten Keime abgesprengt wird, dass aber selbst nach sehr langem und intensivem Schütteln im Reagensglase noch ein stattlicher Rest erhalten bleibt, der dann bei der Übertragung der Granaten auf Agar eine entsprechende Zahl von Colonien entstehen lässt.

Hatte sich diese Annahme damit als hinfällig erwiesen, so vermochte auch ein zweiter Erklärungsversuch

[1]) A. a. O.

noch keine befriedigende Lösung zu bringen. Man konnte nämlich daran denken, dass die Sporen auf der glatten Fläche der Granaten in besonders dünner und gleichmässiger Schicht angetrocknet und daher der Einwirkung der Hitze eher zugänglich seien, als auf anderen Substraten, wie Seidenfäden, Holzstückchen u. s. f., deren rauhe Beschaffenheit ihnen sicherere Deckung, bessere Schlupfwinkel gewährt. Wie wir noch sehen werden, ist dieses Moment für den Erfolg nun ohne Zweifel von nicht zu unterschätzender Wichtigkeit und spielt auch hier wohl eine gewisse Rolle. Aber von entscheidender Bedeutung kann es schon deshalb nicht sein, weil eben die Sporen auf Deckgläschen sich widerstandsfähiger, als auf den Granaten zeigen, und weil sie ferner in einfachen, wässerigen Aufschwemmungen, d. h. völlig frei und dem Dampf schutzlos preisgegeben, bei wiederholten Versuchen noch nach einer ganzen Minute bei 100° nicht abgetötet waren, hier also ein sehr viel höheres Widerstandsvermögen entwickelten.

Immerhin erschien es angebracht, bei diesem Punkte noch etwas länger zu verweilen und durch vergleichende Prüfungen an solchen Stoffen, die mit den Granaten etwa die nämlichen physikalischen Eigenschaften besitzen, festzustellen, wie weit sich der Einfluss der letzteren geltend zu machen weiss. Ich habe hierzu Quarzkörner und — undurchbohrte — Glaskügelchen gewählt. Diese Materialien wurden zunächst mit verdünnter Salzsäure, dann mit Wasser und endlich mit Alkohol und Äther gründlich gereinigt und schliesslich mit Sporen beschickt. Zum Vergleiche dienten in der oben beschriebenen Weise vorbereitete und mit ganz denselben Sporen imprägnirte Granaten. Das Ergebniss war folgendes:

Tabelle VII.

No. des Versuches	Material	Controlröhrchen	Temperaturgrad					Einwirkung des strömenden Dampfes in Minuten	
			85	90	95	98	100	1/4	1/2
1	Granaten	+	+	+	+	±	−	−	−
2		+	+	+	+	−	−	−	−
3		+	+	+	+	−	−	−	−
4		+	+	+	+	±	−	−	−
5		+	+	+	+	−	−	−	−
6		+	+	+	+	−	−	−	−
1	Quarzsand	+	+	+	+	+	+	+	−
2		+	+	+	+	+	+	±	−
3		+	+	+	+	+	+	−	−
4		+	+	+	+	+	+	+	−
5		+	+	+	+	+	+	±	−
6		+	+	+	+	+	+	±	−
1	Glaskügelchen	+	+	+	+	+	+	+	−
2		+	+	+	+	+	+	+	−
3		+	+	+	+	+	+	−	−
4		+	+	+	+	+	+	±	−
5		+	+	+	+	+	+	±	−
6		+	+	+	+	+	+	+	−

Die am Quarzsand und an den Glaskügelchen haftenden Sporen haben also eine Erhitzung auf 100° stets vertragen, während sie an Granaten ebenso regelmässig zu Grunde gingen. Allerdings war auch bei den beiden ersten Materialien die Resistenz eine sehr viel geringere, als z. B. bei den an Seidenfäden, Papierstreifen u. s. f. angetrockneten Sporen, und im Einklang mit dergleichen für Deckgläschen festgestellten Erscheinung wird man nicht daran zweifeln können, dass die glatte Beschaffenheit der Oberfläche, die ein gemeinsames Merkmal jener ersten Gruppe von Stoffen ist, in der That die Vernichtung der Keime aus den früher angedeutenden Gründen begünstigt. Indessen unterscheiden sich die Granaten doch wieder von den übrigen ähnlichen Substanzen. Gewiss ist die Differenz in Hinblick auf die wirksamen Temperaturen keine

gerade erhebliche, wiederum aber eine so constante, dass hier von Zufälligkeiten oder Beobachtungsfehlern gar nicht die Rede sein kann, vielmehr sonstige Ursachen im Spiele sein müssen.

Dabei kann nach Lage der Dinge kaum noch eine andere Möglichkeit in Betracht kommen, als dass den Granaten irgendwelche Stoffe anhaften, die bakterienwidrige, entwickelungshemmende Eigenschaften besitzen. Um dies genauer zu ermitteln, habe ich nun 1. mit destillirtem Wasser, 2. mit verdünnter Salzsäure, 3. mit verdünnter Natronlauge gekochte und dann natürlich zunächst wieder getrocknete Granaten mit Sporen imprägnirt und eine Erhitzung dieser verschiedenen Proben angeschlossen. Zum Vergleich dienten mit denselben Sporen beschickte Seidenfäden. Es ergab sich dabei folgendes:

Tabelle VIII.

Nr. des Versuches	Granaten behandelt mit	Controlröhrchen	Temperaturgrad				Einwirkung des strömenden Dampfes in Minuten
			90	95	98	100	1/4
1	Wasser	+	+	+	—	—	—
2		+	+	+	—	—	—
3		+	+	+	—	—	—
4		+	+	+	—	—	—
5		+	+	+	±	—	—
6		+	+	+	—	—	—
1	Salzsäure	+	+	+	+	±	—
2		+	+	+	+	—	—
3		+	+	+	+	+	—
4		+	+	+	+	±	—
5		+	+	+	+	+	—
6		+	+	+	+	—	—
1	Natronlauge	+	+	+	+	±	—
2		+	+	+	+	±	—
3		+	+	+	±	—	—
4		+	+	+	+	+	—
5		+	+	+	±	+	—
6		+	+	+	±	±	—

Tabelle VIII lehrt, dass der Erfolg in der That unverkennbar ist. Die nur mit Wasser behandelten Granaten zeigten schon nach Erhitzung auf 98° meist kein Wachsthum mehr, während die mit Säure oder Alkali gekochten ihre Sporen 100° noch zum grössten Theile überdauern liessen und erst nach $^1/_4$ Minute im Dampfstrom eine sichere Vernichtung erfahren hatten. Die Seidenfadensporen vertrugen eine 3 Minuten währende Einwirkung des Dampfstromes.

Ein weiterer Versuch sollte das Vorhandensein entwickelungshemmender Substanzen an den Granaten aber in noch helleres Licht setzten. Nur mit Wasser (1), mit verdünnter Salzsäure (2) und mit verdünnter Natronlauge (3) gekochte, getrocknete und sterilisirte, aber nicht mit Sporen beschickte Granaten wurden in Fleischbrühe übertragen und 24 Stunden in der letzteren belassen. In diese Röhrchen übertrug ich darauf eine Minute lang mit strömendem Dampf von 100° behandelte und also gewissermassen „andesinficirte" Sporenseidenfäden, deren Keime, wie ich annehme, bereits eine gewisse Einbusse an natürlicher Widerstandsfähigkeit erlitten hatten und deshalb ein besonders feines Reagens auf das Vorhandensein schädigender Substanzen darstellen würden. Das Ergebniss rechtfertigte diese Vermuthung.

Tabelle IX.

Peptonbouillen	No. des Versuches									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ohne Granaten . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mit den mit H_2O gewaschenen Granaten	−	−	+	−	−	±	−	−	+	−
Mit den mit NaOH behandelten Granaten	−	±	+	±	−	+	±	−	+	+
Mit den mit HCl behandelten Granaten	+	+	+	+	±	±	±	+	+	−

Tabelle IX zeigt uns, dass sich in dem Gläschen ohne Granaten ein üppiges Wachsthum einstellte, in all übrigen Röhrchen eine nachtheilige Einwirkung bemerkbar machte, die Entwickelung bald eintrat, bald aber ausblieb und zwar am häufigsten versagte bei den nur mit Wasser gereinigten Granaten, am häufigsten Statt hatte bei den mit Salzsäure gekochten. Bei einem ganz in der gleichen Weise ausgeführten Versuche mit Quarzsand wurden ähnliche Unterschiede auch nicht andeutungsweise wahrgenommen.

Es konnte nach diesen Ergebnissen kaum noch einem Zweifel unterliegen, dass die Granaten bakterienwidrige Stoffe enthalten, die durch reines Wasser nach und nach gelöst, rascher aber durch Behandlung mit verdünnter Kalilauge und besonders verdünnter Salzsäure ausgezogen werden, und die das Auskeimen erhitzter und schon in ihrer Resistenz geschwächter Milzbrandsporen zu verhindern im Stande sind. Welcher Art konnten diese Stoffe sein? Man hat hier an zwei Möglichkeiten zu denken, entweder nämlich, dass es sich um Substanzen handelt, die einen regelmässigen Bestandtheil der Granaten selbst, des zum Aufbau ihres Körpers verwandten Minerals darstellen, oder aber die bei der Gewinnung und späteren Reinigung auf die Steinchen gelangt sind. Diese Frage zu entscheiden, ist mir trotz meiner Bemühungen nicht geglückt. Die zweite Eventualität freilich dürfte mit Bestimmtheit zurückzuweisen sein: nach wiederholten Erkundigungen bei mehreren sachverständigen Juwelieren werden die Granaten aus dem einschliessenden Gestein nur ausgestemmt und dann mit Wasser geschlemmt, unter Verzicht auf irgendwelche sonstige differente Stoffe. Dagegen enthalten die Granaten Verbindungen der Kieselsäure mit Chromsalzen, in der That Substanzen, denen eine bakterienwidrige Wirkung schon zuzutrauen wäre. Allerdings habe ich selbst mit Hilfe der schärfsten Reagentien Spuren irgend einer bakterienwidrigen Substanz in den Lösungsmitteln, den benutzten Kulturflüssigkeiten festzustellen nicht vermocht.

Mangels jeder anderen befriedigender Erklärung wird man aber zunächst doch wohl nach diesem Strohhalm greifen müssen, der sich dem Verständnisse bietet, und hierzu auch insofern berechtigt sein, als vielfach ältere und neue Erfahrungen uns ja gelehrt haben, dass verschwindende geringfügige und sonst auf keine Weise erkennbare Mengen gerade von Metallen auf die lebende Zelle gewisser niederster pflanzlicher Organismen noch einen sogenannten oligodynamischen Einfluss auszuüben befähigt sind. Diese Thatsache ist zuerst für metallisches Kupfer von Nägeli, später von Cramer[1]) an Pflänzchen aus der Klasse der Algen entdeckt worden. Müller[2]), Behring[3]) und in jüngster Zeit Thiele und Wolff[4]) haben das gleiche dann für verschiedene Metalle den Bakterien gegenüber festgestellt, namentlich aber O. Israel und Th. Klingmann[5]) sowie M. Ficker[6]) die ganze höchst auffällige Erscheinung auf breiterer Grundlage in ihren Einzelheiten geprüft. Alle diese Forscher konnten zunächst die Thatsache bestätigen, auf der die sämtlichen weiteren Versuche fussen: in einer oligodynamischen Kupferlösung, bereitet durch 24stündige Aufbewahrung einer Kupferfolie in Leitungswasser, sahen sie Typhusbacillen, Colibacillen und Choleravibrionen binnen weniger Stunden stets zu Grunde gehen. Um dieses so bemerkenswerthe Ereigniss zu erklären, ist von den verschiedensten Seiten die moderne Ionentheorie herangezogen worden. Bekanntlich nimmt man nach der Lehre der „elektrolytischen Dissociation" an, dass gewisse Klassen von Körpern, wie Salze, Säuren und Basen bei der Lösung in Wasser in einen elektropositiven, und einen elektro-

[1]) Neue Denkschrift der allgemeinen Schweizerischen Gesell. f. d. ges. Naturwissenschaft. Bd. XXXVII. Abth. I.

[2]) Referirt in Behring's Bekämpfungen der Infektionskrankheiten. S. 76.

[3]) A. a. O.

[4]) Archiv f. Hygiene. 1899. Bd. XXXIV. S. 43.

[5]) Archiv f. Path. etc. Bd. 147. S. 293.

[6]) Zeitschrift f. Hygiene. B. XXVII. S. 1.

negativen Antheil gestalten werden, die den Nahmen der Ionen tragen. Diese Zerlegung in Ionen nimmt cetéris paribus mit steigender Verdünnung zu, so dass sich bei einem gewissen Verdünnungsgrade schliesslich nur noch freie Ionen vorfinden. Eine Kupferlösung z. B. mag dieselbe aus metallischem Kupfer, oder aber aus einem Kupfersalz entstanden sein, enthält danach bei starker Verdünnung nur noch freie Kupfertheilchen. Nach den Untersuchungen von L. Kahlenberg und R. H. True[1]), von E. D. Head[2]) ferner von Kroenig und Paul[3]), von H. Coupin[4]) und Anderen scheint nun in der Regel nicht das elektronegative Ion, das „Anion" d. h. jeder Säurerest, sowie Cl. Br. I. und die stellvertretenden Radicale, sondern das elektropositive, das „Kathion" d. h. das Metall, der Wasserstoff etc. der Hauptträger der eventuellen Giftwirkung zu sein, zusammengesetzte Ionen ausserdem minder schädlich zu wirken, dass die einzelnen Elemente derselben und zwar dies selbst noch in dem Fall, dass beide Componenten an sich sehr giftige Ionen darstellen.

Alle diese Beobachtungen können natürlich der Annahme als Stütze dienen, dass auch in unserem Falle derartige Sporen differenter Körper aus den Granaten in Lösung übergegangen seien und die Entwickelung der Milzbrandsporen verhindert hätten. Im übrigen bin ich aber weit davon entfernt, dieser Vermuthung oder Behauptung etwa allgemeine Bedeutung beilegen und auf jeden Fall, in dem Granaten zur Benutzung gelangen, ausdehnen zu wollen. Hierzu würden vielmehr erst sehr zahlreiche, an Granaten von verschiedenster Herkunft ausgeführte Beobachtungen berechtigen und ich versage es mir deshalb auch, von den hier gewonnenen Ergebnissen aus

[1]) Botanical Gazett. 1896. Vol. XXIII. S. 81.
[2]) Ebenda. S. 125.
[3]) A. a. O.
[4]) Compt. rend. 1898. T. 127. p. 400.

die bei den früheren Versuchen mit dem gleichen Material erhaltenen Resultate zu kritisiren.

Haben wir die beiden eigenthümlichen Punkte aus unseren vergleichenden Prüfungen, die geringere Widerstandsfähigkeit nämlich der an Lederstückchen und Rohgranaten haftenden Milzbrandsporen besprochen, so bleibt uns noch die Aufgabe, auch die sonst etwa festgestellten Unterschiede zu erörtern und zu erläutern. Wie bereits erwähnt, zeigten die an Seiden- und Wollfäden, an Seidenzeug, Baumwollstückchen, Federn, Papierstreifen, Holzsplittern und an den mit Kalilauge extrahirten Lederstückchen angetrockneten Sporen ganz den nämlichen Grad der Resistenz oder Empfindlichkeit und überdauerten eine 3 Minuten währende Einwirkung des strömenden Dampfes, erlagen die an Glasperlen sitzenden dagegen nach $2^1/_2$ Minuten, die an Deckgläschen, Glaskügelchen und Quarzsand sitzenden schon nach $^1/_2$ Minute. Auf Beobachtungsfehlern, oder wechselnder Widerstandskraft der Sporen kann diese Differenz nicht beruhen, da stets Sporen von der nämlichen Qualität zur Anwendung gelangten, ausserdem aber jeder Versuch mehrere Male wiederholt und stets mit dem gleichen Erfolge ausgeführt wurde. Die Abweichung in dem Verhalten der ersten und der zweiten Gruppe von Stoffen muss also andere Ursachen haben, und es wird kaum einem Zweifel unterliegen, dass hier die verschiedene Beschaffenheit der Oberfläche das bestimmte Wort spricht. Materialien wie Holzsplitter, Seidenfäden u.s.f. gewähren eben, wie oben schon bemerkt, den Sporen sehr viel bessere Verstecke und Schlupfwinkel, als die völlig glatten Deckgläschen oder Quarzkörner. Das beweist schon die Art des Auskeimens bei den erhitzten aber nicht völlig abgetöteten Proben, stets sieht man die Bakterien, z. B. bei Glasperlen aus der mittleren Öffnung, bei Seidenfäden aus den inneren Theilen hervorwuchern, dagegen fast niemals von der Oberfläche selbst ihren Ausgang nehmen. Damit steht im Zusammenhange, dass bei jenen Substanzen unter

dem Einfluss der Capillarität auch die Schicht selbst, die zur Antrocknung gelangt, eine dickere ist und also dem desinficirenden Mittel der Zutritt erschwert wird. Natürlich wird sich dieser Umstand um so bemerkbarer machen, je dichter die gerade benutzte Bakterienaufschwemmung ist, und die früher schon besprochene, von den verschiedensten Beobachtern festgestellten Befunde der Sporenzahl für das Ergebniss des Versuches findet sicherlich zu einem erheblichen Theile hierin ihre Erklärung. Dass dieselbe in der That eine bedeutende ist, habe ich aus eigenen Erfahrungen bestätigen können. Ich habe Seidenfäden, Deckgläschen, Quarzsand, Glasperlen (mit mittlerer Öffnung) und Glaskügelchen mit einer Sporenaufschwemmung von verschiedener Stärke, und zwar einer concentrirten und einer fünfmal schwächeren imprägnirt und dem strömenden Dampf ausgesetzt (Tabelle X).

Tabelle X.

Concentration der Sporenaufschwemmung	Einwirkung des strömenden Dampfes in Minuten	Material				
		Seidenfäden	Glasperlen	Glaskügelchen	Deckgläschen	Quarzsand
1:1	1/4	+	+	+	+	+
	1/2	+	+	−	−	−
	1	+	+	−	−	−
	1 1/2	+	+	−	−	−
	2	+	+	−	−	−
	2 1/2	+	−	−	−	−
	3	+	−	−	−	−
	3 1/2	+	−	−	−	−
1:5	1/4	+	+	±	+	±
	1/2	+	±	−	−	−
	1	+	+	−	−	−
	1 1/2	+	±	−	−	−
	2	+	−	−	−	−
	2 1/2	±	−	−	−	−
	3	−	−	−	−	−
	3 1/2	−	−	−	−	−

Die gleichen Milzbrandsporen haben also nach der Beschaffenheit des Materials, an dem sie angetrocknet und nach der Menge, d. h. der Dicke der Schicht, in der sie sich auf demselben abgelagert hatten, nicht geringe Schwankungen ihrer Widerständigkeit hervortreten lassen.

III.

Die Einwirkung der Carbolsäure.

Von dem im deutschen Arzneibuche sogenannten „Acidum carbolicum liquefactum", in dem das Phenol sich mit 10% Wasser verbunden findet, habe ich eine 5% Lösung bereitet, je 20 ccm derselben in eine Reihe von sterilisirten kleinen Fläschchen mit einem geschliffenen Stöpsel gegossen und dann die inficirten Testobjecte so hineingelegt, dass sie von der Flüssigkeit gut bedeckt waren. Die so vorbereiteten Flaschen wurden dann im Dunkeln bei Zimmerwärme[1]) aufbewahrt. Täglich wurden aus jedem Gefäss Proben entnommen, in sterilem Wasser kräftig abgespült, in Peptonbouillon übertragen und schliesslich in den Brütschrank gebracht. Bei diesem Versuche erhielt ich folgende Zahlen.

[1]) Die Abhängigkeit der Wirksamkeit des Desinfectionsmittels von der Temperatur ist durch Untersuchungen von Heider (Zeitschrift f. Hygiene. Bd. IX. Heft 3), Pane (Atti della R. Academia medica di Roma 1890. Serie II. Vol. V.) und Anderen festgestellt worden.

Tabelle XI.

Materialien	Nach einem Aufenthalt in 5 % Carbolsäurelösung an Tagen																																																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
Seidenfäden	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Baumwollestückchen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—			
Wollenfäden	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—												
Haare	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—												
Filtrirpapier	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—													
Seidenzeug	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—													
Federn	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—														
Glasperlen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—																		
Holz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—																					
Leder (mit verdünnter KOH gekocht)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—																					
Deckgläschen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—																					
Glaskügelchen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—																											
Granaten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—																														
Leder (mit H_2O gekocht)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—																																

Überblickt man die so gewonnenen Ergebnisse, so zeigt sich zunächst, dass die Widerstandskraft der Sporen nach dem Material, an dem dieselben haften, wieder recht erhebliche Schwankungen aufweist. Die Unterschiede sind hier, bei der längeren Dauer der zur Abtötung der Keime auch im besten Falle nöthigen Zeit, sogar grösser, als bei der Verwendung des Dampfes, bei dem es sich um nicht so viele Minuten, wie hier um Wochen handelt, und die vorhandenen Differenzen deshalb eher verwischen, die Grenzwerthe viel näher aneinanderrücken. Durfte die Prüfung mit Hilfe der Carbolsäure daher als die weitaus feinere, als die empfindlichere Form der Reaction erscheinen, so stimmen doch die ermittelten Differenzen ihrer Art nach ganz mit den beim Dampf gefundenen überein. Hier wie dort und aus den nämlichen Gründen bleiben die an Feder, Papier, Holz und ähnlichen Substanzen haftenden Sporen länger verschont, als die an der glatten Oberfläche der Glaskügelchen u. s. f. angetrockneten; an Seidenfäden sind sie z. B. noch nach 40 Tagen lebendig, an Deckgläschen und Glaskügelchen dagegen nach 20 Tagen abgetötet, und am ehesten büssten die an Granaten befindlichen die Fähigkeit der Entwickelung ein. Dass das frühere Absterben von Sporen an den glatten Materialien auch hier nicht etwa durch eine Abschwemmung der Keime bedingt und also nur vorgetäuscht war, lehrt uns ein vergleichender Versuch mit einer stärkeren und einer schwächeren Carbolsäurelösung (Tabelle XI), aus dem hervorgeht, dass in $2^1/_2{}^0/_0$ Phenol noch nach 40 Tagen an Quarzsand, Granaten, Glaskügelchen lebende Keime vorhanden waren.

Tabelle XII.

Material	Concentration der Carbolsäurelösung														
	5%						$2\frac{1}{2}$%								
	Nach einem Aufenthalt an Tagen														
	5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Quarzsand . .	+	+	+	±	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Granaten . .	+	+	+	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	±	−
Glaskügelchen	+	+	+	±	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Deckgläschen .	+	+	+	±	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	±

Im Übrigen lassen unsere Versuche gerade mit der Carbolsäure keinen Zweifel, dass die von uns benutzte Sporenart einen verhältnissmässig hohen Grad von Resistenz besass. Nachdem Koch[1]) zuerst berichtet hatte, dass seine an Seidenfäden haftenden Milzbrandsporen in 5% Carbolsäure schon nach 2 Tagen vernichtet waren, beobachtete Guttmann[2]) mehrere Jahre später solche, die nach einem 35tägigen Aufenthalt in der nämlichen Lösung überdauerten. Esmarch[3]) fand Proben, die nur 4 und andere, die 40 Tage am Leben blieben; C. Fränkel[4]) stellte eine obere Grenze von 45 Tagen fest und eben diese wird, wie aus Tabelle X hervorgeht, auch von unserem Material erreicht, bezüglich ein wenig überschritten.

Die in den vorstehenden Ausführungen mitgetheilten Versuche haben also den Beweis geliefert, dass ausser den sonstigen zahlreichen Bedingungen, von denen, wie wir wissen, der Ausfall vergleichender Prüfungen über die Wirksamkeit eines Desinfectionsmittels abhängig ist, auch den Stoffen, an denen die ausgesetzten Keime haften, eine erhebliche Bedeutung zukommt. Man wird daher in Zukunft für diesen Zweck entweder die von Geppert[5]) em-

[1]) A. a. O.
[2]) Virchow's Archiv. Bd. C VII. 1887. S. 459.
[3]) A. a. O.
[4]) A. a. O.
[5]) A. a. O.

pfohlene wässerige Aufschwemmung der Sporen benutzen, oder aber feste Substrate imprägniren müssen, die erstens also die Keime nicht in Schichten von wechselnder Dicke zur Ablagerung kommen lassen, eine glatte gleichmässige Oberfläche darbieten und die ferner selbst indifferenter Natur sind. Nach beiden Richtungen am meisten geeignet erschienen uns nach meinen Erfahrungen Quarzkörner von der nämlichen, mit dem Knop'schen Siebsatz ermittelter Grösse, die vor dem Gebrauche mit heissem Wasser wiederholentlich gereinigt und dann getrocknet werden, und bei denen jede oligodynamische Wirkung wohl von vornherein ausgeschlossen werden kann, wie sie nach der Beobachtung von Ficker[1]) bei der Verwendung von Glas stets in Betracht gezogen werden muss.

Dass meine Versuche aber auch für die Desinfectionspraxis nicht ohne Bedeutung sind, und der Beschaffenheit der jeweils zu behandelten Gegenstände eine wichtige Rolle für den Erfolg und die Sicherheit der benutzten Methode zuweisen, bedarf schliesslich wohl keiner besonderen Betrachtung, sondern geht aus den besprochenen Resultaten ohne weiteres hervor.

IV.

Kurze Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

Die Ergebnisse der vorliegenden Versuche lassen sich etwa in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Die Widerstandsfähigkeit der Milzbrandsporen ist nicht nur von ihrer Herkunft, sondern auch hauptsächlich von ihrem Alter abhängig.

[1]) A. a. O.

2. Die Milzbrandsporen behalten den Grad ihrer ursprünglichen Resistenz lange Zeit hindurch in unverändertem Maasse bei, wenn sie bei niedriger Temperatur im Exsiccator aufbewahrt werden.

3. Die Temperatur, bei der die Sporulation Statt hat, übt auf die Resistenz der Sporen keinen Einfluss aus.

4. Das Trocknen des imprägnirten Materials muss bei niedriger Temperatur und möglichst schnell geschehen, da sonst die Gefahr besteht, dass die ursprüngliche Widerstandskraft der Sporen mehr oder weniger leidet.

5. Die von mir beobachtete Erscheinung, dass die an Granaten haftenden Sporen eine geringere Resistenz zeigten, ist vermuthlich oligodynamischen Wirkungen zuzuschreiben.

6. Die Einwirkung des Desinfectionsmittels ist abgängig auch von der Beschaffenheit der Stoffe, an denen die Sporen angetrocknet sind. Die an porenreichen Substanzen sitzenden Sporen werden schwerer vernichtet, als die an glatten Gegenständen haftenden. Aus dem gleichen Grunde wird die scheinbare Resistenz der Sporen um so mehr erhöht, je dichter die benutzte Aufschwemmung ist.

7. Als das beste Material, an dem die Sporen angetrocknet werden sollen, erweisen sich gereinigte Quarzsandkörner.

Lebenslauf.

Ich, Ukichi Otsuki aus Japan, wurde in der Stadt Tokio am 15. April der 1. Periode des Kaiows (1865) geboren. Nachdem ich von meinem 6. bis 17. Lebensjahre die Volks- und dann die dem deutschen Gymnasium entsprechende Mittelschule besuchte, trat ich in ein Privatinstitut ein, wo ich mich dem weiteren Studium der chinesischen Literatur widmete. Vom Jahre 1883—87 besuchte ich die Hochschule in Tokio, studirte nach der beigefügten Übersicht die dort vorgeschriebenen Fächer der Medicin und bestand daselbst im Prüfungsjahre 1887 mein Staats-Examen. Bis zum Februar des Jahres 1889 arbeitete ich als Praktikant in der Universitäts-Klinik Tokio. Im März desselben Jahres wurde ich Hilfsarzt in der genannten Klinik, wo ich bis Mai 1890 blieb. Alsdann war ich als praktischer Arzt bis zum Dezember 1897 thätig. Siedelte dann nach Halle a. S. über, und beschäftigte mich vorwiegend am Hygienischen Institut unter der Leitung des Herrn Prof. Dr. C. Fränkel.

Als akademische Lehrer in Tokio verehre ich:

Prof. T. Imata, Prof. K. Takuchi, Prof. J. Tsuboi, Prof. H. Katajama, Prof. J. Ishe, Prof. K. Murata, Prof. S. Osawa, Prof. H. Kono, Prof. T. Janagi, Prof. S. Takahashi, Prof. A. Uno, Prof. M. Sasaki.

In Halle a. S.:

Prof. Dr. C. Fränkel, Prof. Dr. Pott, Privatdocent Dr. Sobernheim.

In Tokio habe ich folgende Vorlesungen gehört:

1. Anatomie. 2. Gewebelehre. 3. Physiologie. 4. Chirurgie. 5. Pathologie. 6. Pharmakologie. 7. Ophthalmologie. 8. Geburtshilfe, Frauenkrankheiten. 9. Gerichtliche Medizin. 10. Hygiene und Bakteriologie. 11. Klinik für innere Krankheiten. 12. Klinik für äussere Krankheiten.